

DIALOG(R)File 351:Derwent WPI
(c) 2005 Thomson Derwent. All rts. reserv.

007790597

WPI Acc No: 1989-055709/198908

XRAM Acc No: C89-024606

**Co-polyester contg. 3hydroxy-butyrate units and its prepn. - by
profitable and easy method giving co-polyester of good strength**
Patent Assignee: MITSUBISHI KASEI CORP (MITU); MITSUBISHI KASEI CO (MITU
)

Inventor: DOI Y

Number of Countries: 005 Number of Patents: 014

Patent Family:

Patent No	Kind	Date	Applicat No	Kind	Date	Week	
EP 304293	A	19890222	EP 88307635	A	19880817	198908	B
JP 1048820	A	19890223	JP 87204537	A	19870818	198914	
JP 1048821	A	19890223	JP 87204538	A	19870818	198914	
JP 1156320	A	19890619	JP 87316446	A	19871215	198930	
JP 1222788	A	19890906	JP 8849015	A	19880302	198942	
US 4876331	A	19891024	US 88230461	A	19880810	199001	
JP 2027992	A	19900130	JP 88178448	A	19880718	199010	
EP 304293	B1	19930317	EP 88307635	A	19880817	199311	
DE 3879320	G	19930422	DE 3879320	A	19880817	199317	
			EP 88307635	A	19880817		
JP 95014352	B2	19950222	JP 8849015	A	19880302	199512	
JP 95014354	B2	19950222	JP 88178448	A	19880718	199512	
JP 95103230	B2	19951108	JP 87316446	A	19871215	199549	
JP 95113055	B2	19951206	JP 87204537	A	19870818	199602	
JP 96019227	B2	19960228	JP 87204538	A	19870818	199613	

Priority Applications (No Type Date): JP 88178448 A 19880718; JP 87204537 A
19870818; JP 87204538 A 19870818; JP 87316446 A 19871215; JP 8849015 A
19880302.

Cited Patents: 2.Jnl.Ref; A3...9006; EP 204442; EP 69497; No-SR.Pub

Patent Details:

Patent No	Kind	Lan	Pg	Main IPC	Filing Notes
-----------	------	-----	----	----------	--------------

EP 304293	A	E	29		
-----------	---	---	----	--	--

Designated States (Regional): DE GB IT

US 4876331	A		17		
------------	---	--	----	--	--

EP 304293	B1	E	29	C12P-007/62	
-----------	----	---	----	-------------	--

Designated States (Regional): DE GB IT

DE 3879320	G			C12P-007/62	Based on patent EP 304293
------------	---	--	--	-------------	---------------------------

JP 95014352	B2		5	C12P-007/62	Based on patent JP 1222788
-------------	----	--	---	-------------	----------------------------

JP 95014354	B2		4	C12P-007/62	Based on patent JP 2027992
-------------	----	--	---	-------------	----------------------------

JP 95103230	B2		7	C08G-063/06	Based on patent JP 1156320
-------------	----	--	---	-------------	----------------------------

JP 95113055	B2		7	C08G-063/06	Based on patent JP 1048820
-------------	----	--	---	-------------	----------------------------

JP 96019227	B2		7	C08G-063/06	Based on patent JP 1048821
-------------	----	--	---	-------------	----------------------------

Abstract (Basic): EP 304293 A

Copolyester comprises 3-hydroxybutyrate units (3HB) and units selected from (1) 3- and 5-hydroxyvalerate units (3HV, 5HV); (2) 4-hydroxybutyrate units (4HB); and (3) 4HB and 3HV; the intrinsic viscosity of the copolyester (in chloroform at 30 deg.C) is 0.4-10.0 dl/g. Prodn. of a copolyester as above comprises propagating a microorganism capable of producing poly-3-hydroxybutyrate, and culturing the microorganism in a limited source of nitrogen and/or phosphorus and in the presence of a carbon source to form and accumulate the copolyester in the microorganism, the carbon source being selected from (i) a cpd. of formula; (CH₂X₁CH₂CH₂CH₂COO)n₁Y₁, X₁ = hydroxyl, halogen, n₁ = 1-4; Y₁ = hydrogen, or unit- to tetravalent metal atom; (ii) a cpd. of formula (CH₂X₁CH₂CH₂CH₂COO)n₁Y₁; (iii)

(CH₂X₃CHX₄CH₂CH₂COO)n₁Y₁, X₃ = hydrogen halogen or hydroxyl; (iv) 1,4-butanediol; (v) gamma-butyrolactone.

ADVANTAGE - Industrially profitable and easy method for producing a copolyester in which the molar content of other units is relatively large when compared with that of the 3-hydroxybutyrate units. Where the ratio of 3-hydroxybutyrate is less than 50 mol.%, the copolyester has good strength, and the spinning and rolling thereof becomes easier and stabilised. The thus obt'd. prods. e.g. fibres and films are flexible and tough.

0/9

Abstract (Equivalent): EP 304293 B

A copolyester comprising 3-hydroxybutyrate units and units selected from: (1) 3-hydroxyvalerate units and 5-hydroxyvalerate units; (2) 4-hydroxybutyrate units; and (3) 4-hydroxybutyrate units and 3-hydroxyvalerate units; the intrinsic viscosity of the copolyester when measured in chloroform at 30degC being from 0.4 to 10.0 dl/g.

(Dwg.0/9)

Abstract (Equivalent): US 4876331 A

The copolyester comprising a 3-hydroxybutyrate unit and one unit from (1) 3-hydroxyvalerate and a 5-hydroxyvalerate, (2) 4-hydroxybutyrate and (3) 4-hydroxybutyrate and 3-hydroxyvalerate, having an intrinsic viscosity of 0.4-10.0 dl/g (CHCl₃, at 30 deg.C), is prepd. by propagating a microorganism having an ability of producing poly-3-hydroxybutyrate, and culturing the microorganism under a limitation of N and/or P and in the presence of a carbon source and accumulating the copolyester in the microorganism.

USE - Biomedical materials are mfd. using the copolyester.

(17pp)a

Title Terms: CO; POLYESTER; CONTAIN; HYDROXY; BUTYRATE; UNIT; PREPARATION; EASY; METHOD; CO; POLYESTER; STRENGTH

Derwent Class: A23; D16

International Patent Class (Main): C08G-063/06; C12P-007/62

International Patent Class (Additional): A61L-017/00; C08G-063/40;

C08G-063/78; C08H-005/00; C12N-001/20; C12R-001/05; D01F-006/84;

C12P-007/62; C12R-001-05

File Segment: CPI

Manual Codes (CPI/A-N): A03-C02; A05-E02; A12-W11L; D05-C; D05-H08

Plasdoc Codes (KS): 0004 0226 0230 1291 1840 1985 2095 2148 2150 2174 2382
2386 2396 2416 2471 2524 2559 2617 2628 2629 2663 2667 2513

Polymer Fragment Codes (PF):

001 014 02& 038 04& 143 144 157 195 239 255 30& 344 347 358 398 402 405
408 409 419 430 435 481 512 551 556 560 566 567 604 608

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 特 許 公 報 (B 2)

(11) 特許出願公告番号

特公平8-19227

(24) (44) 公告日 平成8年(1996)2月28日

(51) Int.Cl. ⁶	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
C 0 8 G 63/06	N L P			
63/40	N L K			
C 1 2 P 7/62		7432-4B		
// A 6 1 L 17/00				
(C 1 2 P 7/62				

発明の数 2 (全 7 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願昭62-204538	(71) 出願人	999999999 三菱化学株式会社 東京都千代田区丸の内2丁目5番2号
(22) 出願日	昭和62年(1987)8月18日	(72) 発明者	土肥 義治 神奈川県横浜市旭区今宿町2617-39
(85) 公開番号	特開平1-48821	(74) 代理人	弁理士 長谷川 暁司
(43) 公開日	平成1年(1989)2月23日		

審査官 谷口 博

(54) 【発明の名称】 ポリエステル共重合体およびその製造法

1

【特許請求の範囲】

【請求項1】 3-ヒドロキシブチレート単位97~40モル%および4-ヒドロキシブチレート単位3~60モル%からなり、30℃クロロホルム中で測定した $[\eta]$ が0.4~1.0 dl/gの範囲にあるポリエステル共重合体

【請求項2】 ポリ-3-ヒドロキシブチレート生産能を有する微生物を、前段で菌体を増殖させ、後段で該菌体*

2

*を窒素あるいはリンの制限下で培養して該菌体内にポリ-3-ヒドロキシブチレートを生成、蓄積させるに際して、後段の培養を下記一般式(1)で表わされる化合物の存在下におこなうことを特徴とする3-ヒドロキシブチレート単位および4-ヒドロキシブチレート単位からなるポリエステル共重合体の製造法。

$(CH_2XCH_2CH_2COO)_nY$

(1)

但し、式中Xはヒドロキシル基または
ヘロゲン原子を、nは1~4の整数を、
Yは水素原子または1~4価の金属原子
を示す。

BEST AVAILABLE COPY

〔産業上の利用分野〕

〔従来の技術〕

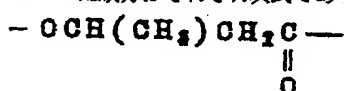
〔発明が解決しようとする問題点〕

例えば特開昭57-150393号公報および特開昭59-220192号公報には共重合成分として3-ヒドロキシバリレート(以下3HM成分と記す)を含むPHB共重合体が開示されている。これらの公報では、従来のPHBの製造法と同様に、前段では菌体を増殖させ、後段では窒素あるいはリ*

但し、式中 X はヒドロキシル基またはハロゲン原子を、 n は $1 \sim 4$ の整数を、 Y は水素原子または $1 \sim 4$ 価の金属原子を示す。

以下、本発明を詳細に説明する。

З Н В 成分：



× H B 成分；



＊ンを制限して微生物を増殖し、共重合体を製造するものである。この3HB-3HV共重合体は柔軟性に富み、材料として有望ではある。しかしながら3HV成分が増大すると、これに伴った融点(T_m)降下が著しく、例えば3HVが25モル%での T_m は約120℃まで低下してしまう。更に3HV含有量の変化に伴う融点の変化が激しい為、工業的に均一な製品を得ることは極めて困難な状況にあった。

〔問題を解決するための手段〕

本発明者は以上の点に鑑み、PHBに柔軟性を賦与する、
10. と同時に比較的高く、かつ安定した融点を示す共重合体を得るべく鋭意検討した結果、後段の室素あるいはリンを制限する培養に於いて、特定の化合物の存在下でPHB生産能を有する微生物を培養するとこの菌体中に、目的とする共重合体が生成、蓄積することを見出し本発明に到達した。すなわち本発明は、

(1) 3-ヒドロキシブチレート単位97~40モル%および4-ヒドロキシブチレート単位3~60モル%からなり、30°Cクロロホルム中で測定した $[\eta]$ が0.4~10.0dl/gの範囲にあるポリエステル共重合体。

20 (2) ポリ-3-ヒドロキシブチレート生産能を有する微生物を、前段で菌体を増殖させ、後段で該菌体を窒素あるいはリンの制限下で培養して該菌体内にポリ-3-ヒドロキシブチレートを生成、蓄積させるに際して、後段の培養を下記一般式(1)で表わされる化合物の存在下におこなうことを特徴とする3-ヒドロキシブチレート単位および4-ヒドロキシブチレート単位からなるポリエステル共重合体の製造法

$$(\text{CH}_2 \text{XCH}_2 \text{CH}_2 \text{COO})_n \text{Y}$$

(1)

※ 本発明において共重合体に含有される3HB成分および4

※ HB成分はそれぞれ次式であらわされる。

tus)、アルカリゲネス アクアマリヌス (*Alcaligenes aquamarinus*) およびアルカリゲネス ユウトロフス (*Alcaligenes eutrophs*) 等のアルカリゲネス属などがある。

これらの菌種に属する菌株の代表例として、アルカリ

ゲネス フェカリス ATCC8750、アルカリゲネス ルーランディ ATCC15749、アルカリゲネス ラタス ATCC29712、アルカリゲネス アクアマリヌス ATCC14400 ならびにアルカリゲネス ユウトロフス H-16 ATCC17699 およびこの H-16 株の突然変異株であるアルカリゲネス ユウトロフス NCIB11597、同 NCIB11598、同 NCIB11599、同 NCIB11600 などを挙げる事ができる。これらのうち、実用上、アルカリゲネス ユウトロフス H-16 ATCC17699 およびアルカリゲネス ユウトロフス NCIB11599 が特に好ましい。

アルカリゲネス属に属するこれらの微生物の菌学的性質は、たとえば、"BERGEY'S MANUAL OF DETERMINATIVE BACTERIOLOGY: Eighth Edition, The Williams & Wilkins Company/Baltimore" に、また、アルカリゲネス ユウトロフス H-16 の菌学的性質は、たとえば、J. Gen. Microbiol., 115, 185~192 (1979) にそれぞれ記載されている。

これらの微生物は、従来の方法と同様に、主として菌体を増殖させる前段の培養と、窒素もしくはりんを制限して菌体内に共重合体を生成、蓄積させる後段の培養との2段で培養される。

前段の培養は、微生物を増殖させる為の通常の培養法を適用することができる。すなわち、使用する微生物が増殖し得る培地および培養条件を採用すればよい。

培地成分は、使用する微生物が資化し得る物質であれば特に制限はないが、実用上は、炭素源としては、たとえば、メタノール、エタノールおよび酢酸などの合成炭素源、二酸化炭素などの無機炭素源、酵母エキス、糖蜜、ペプトンおよび肉エキスなどの天然物、アラビノース、グルコース、マンノース、フラクトースおよびガラクトースなどの糖類ならびにソルビトール、マンニトールおよびイノシトールなど、窒素源としては、たとえば、アンモニア、アンモニウム塩、硝酸塩などの無機窒素*

但し、式中 X はヒドロキシル基またはハロゲン原子を、n は 1~4 の整数を、Y は水素原子あるいは 1~4 価の金属原子を示す。

一般式 (I) で表わされる化合物としては具体的に、4-ヒドロキシ酪酸、4-クロロ酪酸、4-ブromo酪酸等の酪酸誘導体およびそれぞれのナトリウム塩、カリウム塩、マグネシウム塩、カルシウム塩、アルミニウム塩等を挙げる事ができる。

かかる一般式 (I) で表わされる化合物は、後段の培養における培地もしくは培養液に含有せしめられる。後者の場合には、培養の初期乃至終期のどの時点でも良いが培養の初期が好ましい。

* 素化合物および/または、たとえば、尿素、コーン・スティープ・リカー、カゼイン、ペプトン、酵母エキス、肉エキスなどの有機窒素含有物ならびに無機成分としては、たとえば、カルシウム塩、マグネシウム塩、カリウム塩、ナトリウム塩、りん酸塩、マンガン塩、亜鉛塩、鉄塩、銅塩、モリブデン塩、コバルト塩、ニッケル塩、クロム塩、ほう素化合物および/または素化合物などからそれぞれ選択される。

また、必要に応じて、ビタミン類なども使用することができる。

培養条件としては、温度は、たとえば、20~40°C 程度、好ましくは 25~35°C 程度とされ、また、pH は、たとえば、8~10 程度、好ましくは 6.5~9.5 程度とされる。このような条件で好氣的に培養する。

これらの条件をはずして培養した場合には、微生物の増殖は比較的悪くなるが、これらの条件をはずして培養することを妨げない。

培養方式は、回分培養または連続培養のいずれでもよい。

前段の培養によって得られた菌体を、さらに窒素および/またはりん制限条件下で培養する。

すなわち、前段の培養で得られた培養液から微生物の菌体を、ろ過および遠心分離のような通常の固液分離手段により分離回収し、この菌体を後段の培養に付するか、または、前段の培養において、窒素および/またはりんを実質的に枯渇させて、菌体を分離回収することなく、この培養液を後段の培養に移行させることによってできる。

この後段の培養においては、培地または培養液に窒素および/またはりんを実質的に含有せず、かつ、下記一般式 (I) で表わされる化合物を炭素源として含有させる以外には、前段の培養と異なることはない。



一般式 (I) で表わされる化合物の使用量は、共重合体を生成させることができ、かつ、微生物の生育を阻害しないような量であればよく、使用した微生物の菌株および共重合体中の 4HB 成分の所望の割合などによって異なるが、一般に培地もしくは培養液の一般式 (I) で表わされる化合物の比率を高くすると、共重合体中の 4HB 成分の割合が多くなる。通常は、培地もしくは培養液 1 g 当たり、一般式 (I) で表わされる化合物として 3~40 g 程度、好ましくは 5~30 g 程度である。

この後段の培養においては、一般式(1)で表わされる化合物を唯一の炭素源としてもよいが、使用した微生物が資化し得る他の炭素源—たとえば、グルコース、フラクトース、メタノール、エタノール、酢酸、プロピオン酸、*n*-酪酸、および乳酸などを少量共存させることもできる。たとえば、グルコースを使用する場合には、多くても1.5g/ℓ程度とされる。

このように培養して得られた培養液から、伊過および遠心分離などの通常の固液分離手段によって菌体を分離回収し、この菌体を洗浄、乾燥して乾燥菌体を得、この乾燥菌体から、常法により、たとえば、クロロホルムのような有機溶剤で生成された共重合体を抽出し、この抽出液に、たとえば、ヘキサンのような貧溶媒を加えて、共重合体を沈澱させる。

本発明の製造法によって、適切な反応条件をとれば共重合体中の3HB成分に対する4HB成分の割合は任意に調節することができる。そして本発明によって得られる共重合体は、比較的高く、かつ安定した融点を保持しつつ、結晶化度が小さい為柔軟性に富んでいる。そこで紡糸および圧延等の成形性が良く、また得られた繊維やフィルム等の成形品は、しなやかで、かつ強靱である。

〔実施例〕

本発明を、実施例によりさらに具体的に説明する。なお、本発明は、これらの実施例に限定されるものではない。

実施例1～9及び比較例1

アルカリゲネス ユウトロフス H-16ATCC17699 を使用して共重合体を製造した。すなわち、
前段培養：

つぎの組成を有する培地で前記の微生物を30℃で24時間培養し、対数増殖期終期の培養液から遠心分離により菌体を分離した。

前段培養用培地の組成

酵母エキス 10g ポリペプトン 10g
肉エキス 5g (NH₄)₂SO₄ 5g

これらを脱イオン水 1ℓ に溶解し、pH7.0に調整した。

後段培養：

前段培養で得られた菌体を、つぎの組成を有する培地*

表

*に、1ℓあたり5gの割合で懸濁させ30℃で48時間培養し、得られた培養液から遠心分離により菌体を分離して、菌体を得た。

後段培養用培地の組成

0.5M	りん酸水素カリウム水溶液	39.0ml
0.5M	りん酸水素二カリウム水溶液	53.6ml
20wt%/ℓ	硫酸マグネシウム水溶液	1.0ml
	炭素源*	
	ミネラル溶液**	1.0ml

10 *炭素源として後記表1の割合で、4-ヒドロキシ酪酸および酪酸を使用した。

(単位 g/ℓ培地)

**ミネラル溶液

CoCl ₂	119.0mg
FeCl ₃	9.7g
CaCl ₂	7.8g
NiCl ₂	118.0mg
CrCl ₂	62.2mg
CaSO ₄	156.4mg

20 を0.1N-HCl1ℓに溶解

これらを脱イオン水1ℓに溶解し、pH7.0に調整した。

菌体の処理：

後段培養で得られた菌体を蒸留水で洗浄し、引続きアセトンで洗浄し、これを減圧乾燥(20℃、0.1mmHg)して乾燥菌体を得た。

共重合体の分離回収：

このようにして得られた乾燥菌体から熱クロロホルムで共重合体を抽出し、この抽出液にヘキサンを加えて共重合体を沈澱させ、この沈澱を伊取、乾燥して共重合体を得た。

共重合体の特性：

このようにして得られた共重合体の組成、固有粘度をつぎのようにして測定した。すなわち、

組成：¹H-NMRスペクトルによる。

固有粘度[η]：30℃、クロロホルム中。

測定結果などを第1表に示す。

尚、実施例4の500MHz¹H-NMRスペクトル及び125MHz¹³C-NMRスペクトルを図1及び図2に各々示した。

1

	炭素源(g)		乾燥菌体重量 (g)	共重合体含有率 (%)	共重合体組成(モル%)		[η] (dl/g)
	4-ヒドロキシ酪酸	酪酸			3HB	4HB	
実施例1	4	0	2.8	7	75	25	—
// 2	8	0	3.3	14	74	26	—
// 3	12	0	4.1	18	74	26	—
// 4	16	0	3.5	19	73	27	4.3
// 5	20	0	2.9	19	69	31	—
// 6	24	0	3.5	13	66	34	4.0

	炭素源(g)		乾燥菌体重量 (g)	共重合体含有率 (%)	共重合体組成(モル%)		〔η〕 (dl/g)
	4-ヒドロキシ酪酸	酪酸			3HB	4HB	
// 7	28	0	3.5	8	64	36	—
比較例 1	0	20	9.6	51	100	0	3.3
実施例 8	4	15	8.5	53	95	5	—
// 9	8	10	7.6	48	87	13	3.9

実施例10

後段培養における炭素源として4-クロル酪酸を1g当り18g使用したこと以外は実施例1と同様の操作により得た共重合体の結果を、表2に示す。

表2のうち連鎖分布、融解温度および融解熱は次の様にして測定した。

連鎖分布：本発明者およびその他の方法（Y. Doi et al, Macromolecules, 19, 2860~2864 (1986)）に従いカルボニル炭素の多重線共鳴構造から推定。

融解温度：DSC測定による（昇温速度 10°C/min）

融解熱：DSC測定による

尚、元素分析におけるC, H, Oの計算値は下記の通り*20

表

2

	乾燥 菌体 重量 (g)	共重合 体含有 率 (%)	共重合体組成 (モル%)		連鎖分布(モル%)				〔η〕 (dl/g)	融解 温度 (℃)	融解 熱 (cal/g)	元素分析		
			3HB	4HB	〔3HB- 3HB〕	〔3HB- 4HB〕	〔4HB- 3HB〕	〔4HB- 4HB〕				C	H	Cl
実施例10	5.1	27	89	11	82	9	9	0	3.9	158	11.1	55.50	7.09	0.29
〃 11	3.7	30	67	33	55	13	13	19	2.9	166	3.7	55.60	6.64	—
〃 12	4.5	20	51	49	32	21	19	28	6.1	159	0.5	55.18	6.95	—
比較例 1	9.5	51	100	—	100	0	0	0	3.3	177	19.5	55.88	7.34	—

〔発明の効果〕

本発明によれば3HB成分と4HB成分を含有する新規のポリエステル共重合体を容易に得ることができる。

さらに、本発明で得られた共重合体は、優れた種々の特性を有しているので、手術糸および骨折固定用材などの医用材料の原料として極めて好適であり、また、徐放性システムへの利用などの多方面への応用が期待される。

*である。

C H
55.81% 7.02%

実施例11

後段培養における炭素源として4-ヒドロキシ酪酸ナトリウムを1g当り20g使用したこと以外は実施例10と同様の操作により得た共重合体の結果を表2に示す。

実施例12

アルカリゲネス ユウトロフスNCIB11599を使用したこと以外は実施例11と同様の操作により得た共重合体の結果を表2に示す。

る。

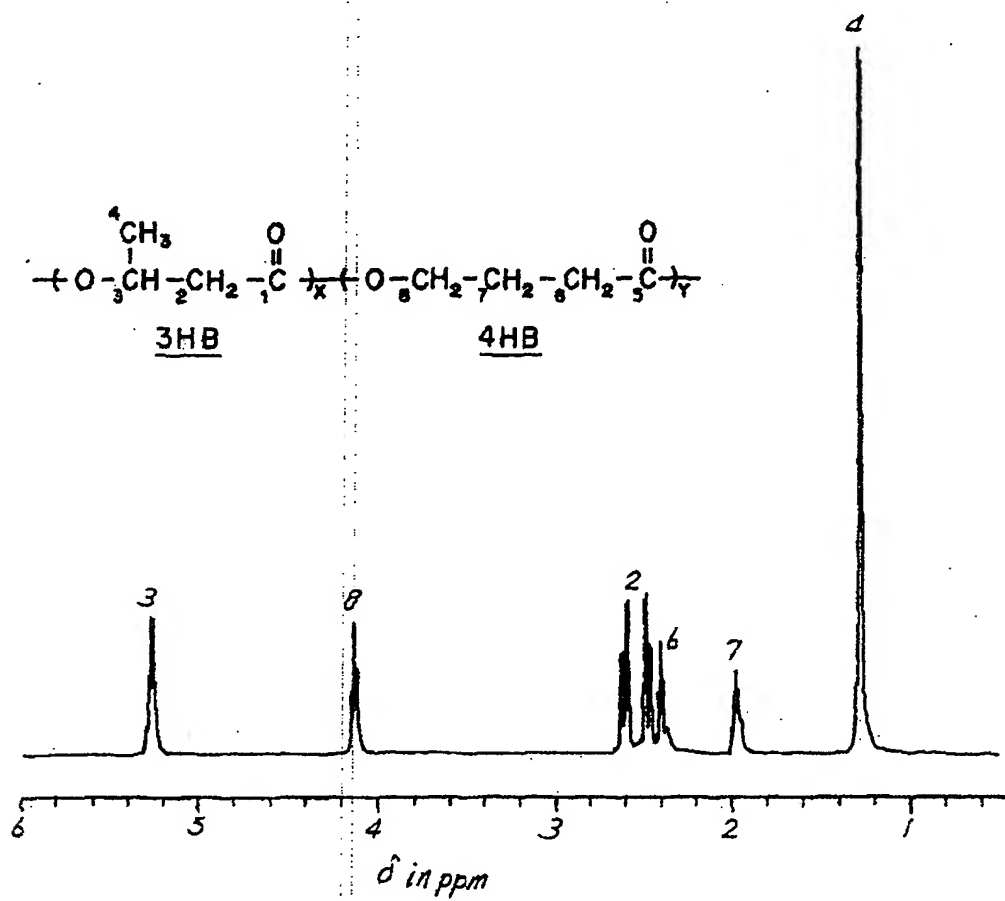
〔図面の簡単な説明〕

図1は実施例4で得られた共重合体の500MHz、¹H-NMRスペクトルを、図2は同じく実施例4で得られた共重合体の125MHz、¹³C-NMRスペクトルである。図中の構造式に付した数字は各々ピークの数字に対応するものである。

(6)

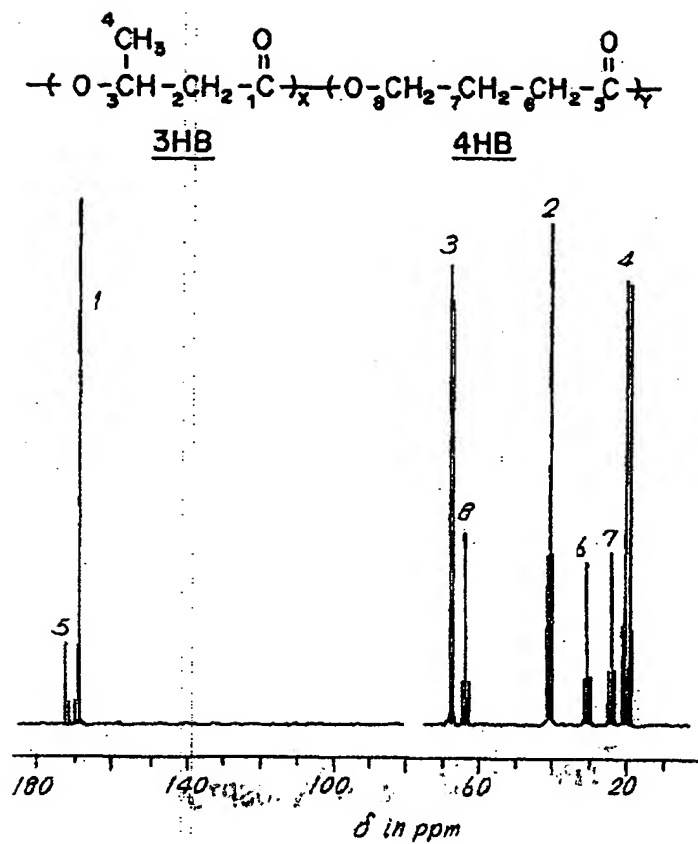
特公平8-19227

【第1図】



BEST AVAILABLE COPY

【第2図】



フロントページの続き

(51)Int.Cl.⁶
C12R 1:05

識別記号

庁内整理番号

F I

技術表示箇所

THIS PAGE BLANK (USPTO)